

# 河川環境調査への環境DNA導入に向けて

村岡敬子・赤道正悟・金谷将志・崎谷和貴

## 1. はじめに

河川水や土壌といった環境試料から生物に由来するDNAを取り出し、DNAの持ち主の情報を得る環境DNA調査技術（以降「環境DNA」という。）は、生物を直接とらえない簡便な生物調査手法として様々な生物群を対象に研究が進められている。なかでもDNAデータベースが充実している魚類を対象としたMiFish法<sup>1)</sup>は、“バケツ一杯の水で棲んでいる魚がまるごとわかる技術”として2015年に発表された後、またたくまに国内外に広がった<sup>2)</sup>。河川水辺の国勢調査（以降「水国調査」という。）においても、MiFish法を併用した試行事例が、2016年に少なくとも2水系3河川5ダムで行われている。2019年になると環境DNA学会が「環境DNA調査・実験マニュアル」を、翌年に環境省が「環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」をそれぞれのHP上に公開した。国土交通省においても、水国調査を今後も安定的に実施するとともに生物調査の高度化を図るため、2019年に水国調査への環境DNAの導入に向けた検討を開始した。

全国一律定期調査である水国調査への環境DNA導入にあたっては、結果が実施体制（受注者）や現地の状況に左右されない事や、希少種を含めた生物情報が正確である事が求められる。そこで、土木研究所（以降「土研」という。）では、国土交通省と連携しながら、環境DNAを水国調査に導入するために必要な調査技術の標準化に向けた全国調査（以降「全国調査」という。）を進めている。本調査では、地方整備局の協力を得た38水系の直轄65河川35ダムと土研単独調査による27河川で3,000種を超える水サンプルを収集し、これを土研が一貫してMiFish法による分析・解析を行うことで、全国の河川・ダムを横並びに比較しながら標準化に向けた様々な事項を検討している。本報文では、全国調査の成果を踏まえた現

在の取り組み状況を紹介する。尚、全国調査の詳細については、文末に示す参考文献や土研流域生態チームのHPを参照していただきたい。

## 2. 調査技術の標準化に向けて

### 2.1 環境DNAで水国調査に匹敵する生物情報を得られるか

2020年の全国調査の結果から、国が管理する規模の河川・ダムにおいて環境DNAにより生物情報が得られる範囲が水国調査で捕獲を行う調査地区の長さと同程度であること、ワンドやたまりで捕獲される種は本川の環境DNAでは検出されにくいなどの知見が得られた<sup>3)</sup>。また、過去30年間に水国調査で確認された経年確認種を、環境DNA調査あるいは単年の捕獲調査で何種確認できるかを比較すると、1回の環境DNA調査は夏・秋2回の捕獲調査よりも多くの種を確認できる結果となった（図-1）。環境DNA調査は、採水地点につながる水域の面的な生物情報を反映しており、個体数が少ない種や捕獲しにくい場にいる種に有効であると考えられた。また、同年に実施した捕獲調査と環境DNAの比較から、環境DNAによって効率的に捉えるための採水地点は、河川

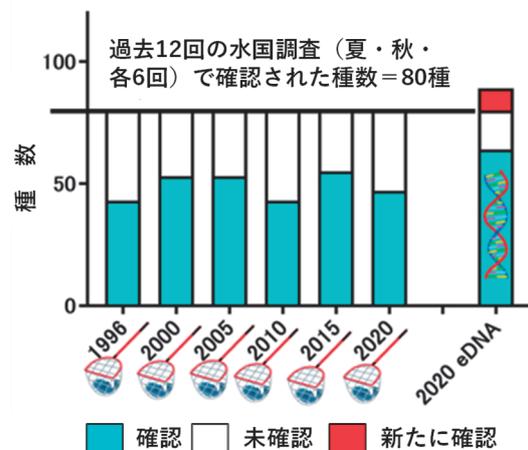


図-1 捕獲調査と環境DNAの確認種数の比較  
捕獲調査は、各年夏・秋で確認された種数を、環境DNAは秋1回の確認種数を示す。いずれも環境区分毎に調査している。

では「①調査地区の下流側左右岸、②ワンドなど河川と水のつながりが低い地点、③その他の環境区分の順で、①～③で4～5地点となるように設定」が効率的であることが示された<sup>4)</sup>。2021年に19水系を対象に、この採水地点案を用いた検証を行ったところ、河川淡水域では同時期の水国調査（捕獲調査）で確認された種の平均92%が環境DNAで検出できる良好な結果を得たのに対し、汽水域ではその値は72%にとどまった。

汽水域の捕獲調査では、一昼夜定置網を設置することで、潮の干満によって時系列的に変化する魚類相全般を把握できるのに対し、環境DNAでは、採水のタイミングや地点をどのように設定するかが調査結果に大きく影響する<sup>5)</sup>。潮汐環境は水系間でも異なることから、2022年には潮汐環境の特徴が異なる全国11水系を抽出し、潮汐を加味した調査を行っている。

## 2.2 捕獲調査と環境DNAを併用する

捕獲調査と環境DNAでは、どちらも生物の種名リストが得られるが、情報の質には大きな違いがある。直接調査である捕獲調査では、「その魚がどの地点に何匹いたか」や「大きさや成長段階などの再生産に関わる情報」を知ることができる。これらの情報は、河川管理の現場でハビタットの評価や希少生物等のモニタリングを行う際に重要となる。一方、間接調査である環境DNAで得られる情報は、「採水地点につながる水域にどの生物（のDNA）が存在したか」であり「何匹いたか」、「大きい小さいか」などはわからない。そのため、水国調査への環境DNA導入に向けた検討の中では、水際やワンドといった小型の魚や幼魚が好んで使う環境を対象としたたも網・さで網による捕獲調査により、再生産に関わる情報を補う案が考えられた。調査地区の下流側左右岸（2点）で環境DNA調査を行い、同調査地区におけるたも網・さで網による捕獲調査を組み合わせると、これまでの水国調査に匹敵する魚種リストが得られる事が全国調査のデータにより確認された。

ところで、環境DNAで得られる生物情報の中には、MiFish法では種を特定できないグループがいくつかある。反対に、スナヤツメ属のように目視では種判別が難しいが、MiFish法で種を特定できるグループもある。このように、捕獲調査と環境DNA生物情報は完全には一致しない。捕

獲調査と環境DNAの併用や、環境DNA導入後に魚類リストを経年的に比較するためには、捕獲調査と環境DNAの結果をどのように突き合わせていくのかという課題もあり、引き続き検討を進めている。

## 2.3 現場ニーズに沿った標準化

来年度から水国調査マニュアルの改訂に向け、本格的な議論が始まることが予定されており、全国調査の解析結果などを踏まえながら、捕獲調査と環境DNAの併用を含む複数の導入方法が提案されている。土研では、議論の内容に合わせた情報を提示してだけでなく、これまでの水国の枠組みにとらわれない提案につながる整理も行っている。

例えばダム湖では、河川流入部と湖岸部に複数の調査地区が設けられているが、湖内の流速が小さく、組織片の拡散範囲が限定的であるため、魚類相を捉えにくい実情がある。そのためこれまでの水国と同様に“調査地区ごとの魚類相”を捉えようとすると、相当数のサンプル数が必要となることが予想される。しかし、調査地区ごとではなく“ダム湖全体の魚類相”を捉えることを目的とすれば、効率的な調査につながる採水地点・採水量・採水方法などを提案できる可能性がある<sup>6)</sup>。

このように具体的な調査規模が想定されるようになると、現場の実情から新たな課題が浮かび上がってきた。水国調査を行う企業の多くは自社内に環境DNA分析装置を有しておらず、大半は国内に数社ある分析会社に分析を委託している。その場合、調査時に採水された水は、宅配便等で分析会社に輸送され、分析会社がろ過以降の作業を行うのが一般的である。しかし、過去10カ年の水国調査の実績を元に試算したところ、河川の水国秋季調査のタイミングで数日の間に1,600を超えるサンプルが発生する可能性が示され、ろ過の処理能力が不足することが懸念された。また、全国調査の中には、調査地が集落から離れているため、調査終了までサンプルを発送することができない事例もあった。ろ過後のサンプルは冷凍や保存液による保管が可能となるが、水サンプルは数日のうちにろ過を行う必要がある。水国調査への環境DNA導入に当たっては、水質分析会社との連携などにより「ろ過済サンプルを分析会社に送る」という体制がとれないか、検討を進めている。

### 3. 環境DNAによる生物情報の高度化

#### 3.1 環境DNAのメリットを活かした使い方

環境DNAでは、「地点・体長・個体数」の情報を得られない一方、捕獲調査では得ることが困難な様々な情報を得ることができる。環境DNAの利点を活かした使い方について、いくつかの検討事例を示す。

##### (1) 採水地点を河川全体に配置する

環境DNAは、現地作業に要する時間が捕獲調査よりも小さく、採水地点を広域に設定するなどのアレンジにも対応しやすい。例えば調査地区が4地区設定されている雲出川では、水国調査地区内の魚類相を環境DNAで捉えようとする、地区当たり4～5地点×4地区=16～20地点のサンプルの分析が発生する。この最大20地点を河川全体に配置すると、河道を俯瞰した生物情報が得られる。図-2は、現水国調査と等間隔片岸1サンプルの環境DNA調査による「重要種・希少種」と「外来種」の分布情報を示す。片岸1サンプルの環境DNA情報では、1地点の生物情報は粗いと考えられるが、連続的に情報があることで、外来種が下流側で多いことや、重要種・希少種が多い区間などの情報を得ることができる。回遊性魚類を対象にすれば、魚類の移動環境の評価などを行うことも可能となる。

##### (2) 水質調査を活用したサンプリング

図-3は、水国調査地点と水質調査地点の環境DNA情報と、物理場情報を用いて作成したドジョウの“生息適地モデル（ポテンシャルマップ）”を示す。生息適地モデルの作成には、その生物の“在”と“不在”双方の地点情報が相当数必要となるが、捕獲調査で“不在”を確認することは難

しく、生息適地モデルを作るためには多大な労力を要する。環境DNAは採水地点につながる面的な生物情報を反映しており、捕獲しにくい種の調査に有効であること、多地点調査が容易で感度も高いことなどから、生息適地モデルの作成に必要な情報を整えやすい。また、1回の調査で複数の魚種の生息適地モデルの構築も可能である。

環境DNAは、水サンプルから得られる生物情報であることから、水質調査を活用した多地点調査も可能である。毎月行っている定期水質調査のサンプルを使えば、年間を通じた魚類の分布情報を得ることも可能となる。

##### (3) MiFish法にみられる遺伝的多様性

同じ魚種でも地域や個体間では、遺伝情報中に小さな違いがあり、こうした違いを活用した地域個体群の健全性の評価や再生産・移動分散に関する調査が、捕獲個体のDNAを使い行われてきた。種によってばらつきはあるものの、こうした遺伝的な違いが、全国調査で使ったMiFish法でも検出されることが示されるとともに、地域間の交流や生息適地評価や地域個体群につながる情報が得られる種も確認されている。

##### (4) 調査対象種を絞った調査

環境DNA調査には、任意の特定種を対象とした調査法があり、調査目的に応じた様々なアレンジが可能であるとともに、MiFish法に比べ安価で感度も高い。時系列的な連続調査をすることで、対象種の産卵行動の推定や、条件を整えば資源量につながる情報も得ることができる。こうした情報を自動観測する技術や、現地で簡易に在不在を確認する技術も開発されている。

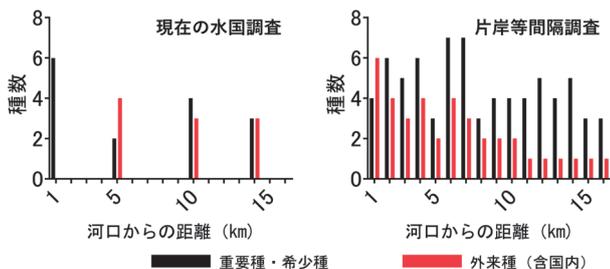


図-2 採水地点のアレンジによる生物情報の変化

「重要種・希少種」、「外来種」がどのくらいいるかを示す。捕獲調査に匹敵する魚類相を得るための採水地点数を等間隔に設置した片岸等間隔調査では、外来種が下流域に多いことや、重要種・希少種がより多くいる区間など、河川を俯瞰した情報を得ることができる。

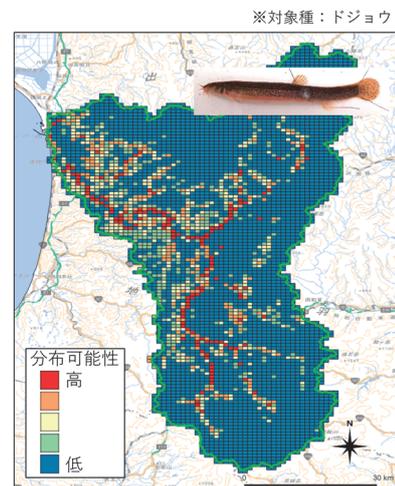


図-3 環境DNAにより作成した生物生息適地モデル

### 3.2 環境DNAで見えてくる流域レベルの生物多様性

河川や水路などの水域環境だけを見ても、国土交通省だけでなく、他省庁や大学、市民グループなどが様々な目的で生物調査を実施している。しかし、調査の方法や努力量、熟練度などが異なるために、各々のデータを共有する事はできても、統合する事は難しい。一方、環境DNAの結果は、生物情報としての質にばらつきが少なく、情報を統合しやすい。

土研では、環境DNAを活用する他省庁や関係研究機関と情報の共有に向けた意見交換を行っている。さらに、今年度開始した共同研究では農研機構・港湾空港研究所・企業と共に、技術の標準化に向け実務者の視点から課題解決に取り組むとともに、魚類以外の生物群への展開や生物情報の高度化にも取り組んでいる。

東北大学などが中心になって構築した「環境DNAによる生物多様性観測のためのネットワーク (ANEMONE)」では、日本各地の研究者らが連携して得た環境DNAによる生物情報を2022年よりHPで公開している<sup>7)</sup>。河川水から水辺の鳥類の情報が得られ<sup>8)</sup>、水国調査のDNAサンプルから他の生物群の情報も検出することが可能であった。環境DNAによって、これまで類を見ない規模の生態系情報が構築されつつある。

## 4. まとめ

2019年に始まった全国調査を通じ、標準化に向けた具体的な道筋もみえてきた。この間、地方整備局らと連携し、土研が一貫して分析・解析を担うことで、現場が抱える課題の精査と解決も進んでいる。一方、水国調査の捕獲調査を環境DNAによって完全に代替することは、その性質上不可能である。引き続き土研としては、河川管

理者および実務者の双方の立場から幅広い意見を収集し、現場ニーズに沿った標準化に向けた研究活動に反映させていきたいと考えている。

## 謝 辞

全国調査の実施に当たっては、各地方整備局、河川・ダムの事務所、水国調査や定期水質調査の担当会社の方々に多大なご協力を賜った。ここに謝意を表します。

## 参考文献

- 1) Miya, M., Sato, Y., Sado, T. et al.: MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species. R. Soc. open sci. 2: 150088., 2015
- 2) 宮 正樹：バケツ一杯の水で棲んでいる魚が丸ごとわかる技術：MiFishプライマーを用いた環境DNAメタバーコーディング法の最新情報、環境アセスメント学会誌、18巻2号、pp. 20~24、(2020)
- 3) 村岡敬子・天野聡：河川管理の現場への環境DNA実装化に向けて～令和2年度全国調査速報～、土木技術資料、第63巻、第5号、pp.57~58、2021
- 4) 篠原隆佑・菅野一輝・村岡敬子・天羽淳・中村圭吾：環境DNA分析の河川の魚類調査への適用に向けた最適な採水地点の検討、河川技術論文集、第28巻、2022年6月
- 5) 平田真二・白尾豪宏・飯田岳・赤松良久・乾隆帝・中村圭吾・村岡敬子：汽水域及び河川下流域における環境DNAの空間分布把握とサンプリング法の検討、河川技術論文集、第25巻、2019年6月
- 6) 村岡敬子・天羽淳・菅野一輝・篠原隆佑・中村圭吾：ダム湖内魚類相を効率的に捉えるための環境DNA調査手法に関する検討、河川技術論文集、第28巻、2022年6月
- 7) <https://db.anemone.bio/>
- 8) 田和康太・篠原隆佑・菅野一輝・村岡敬子・中村圭吾：河川域の鳥類を対象とした環境DNA解析と観察調査の比較一那珂川を事例に一、河川技術論文集、第28巻、2022年6月

村岡敬子



土木研究所 流域水環境  
研究グループ流域生態  
チーム 総括主任研究員  
MURAOKA Keiko

赤道正悟



国土交通省水管理・国  
土保全局河川環境課  
課長補佐  
AKAMICHI Shogo

金谷将志



国土交通省水管理・国  
土保全局河川環境課  
係長  
KANAYA Masashi

崎谷和貴



土木研究所 流域水環境  
研究グループ流域生態  
チーム 上席研究員  
SAKIYA Kazutaka